


Biofilmų tyrimai jūrinėje ekosistemoje

Ankstyvos sukcesijos ypatumai biologinių invazijų kontekste



Anastasija Zaiko,
Kate Schimanski,
Xavier Pochon,
Grant A. Hopkins,
Oliver Floerl ,
Susanna A. Wood

anastasija@corpi.ku.lt

Biologinės apaugos vandens ekosistemoje



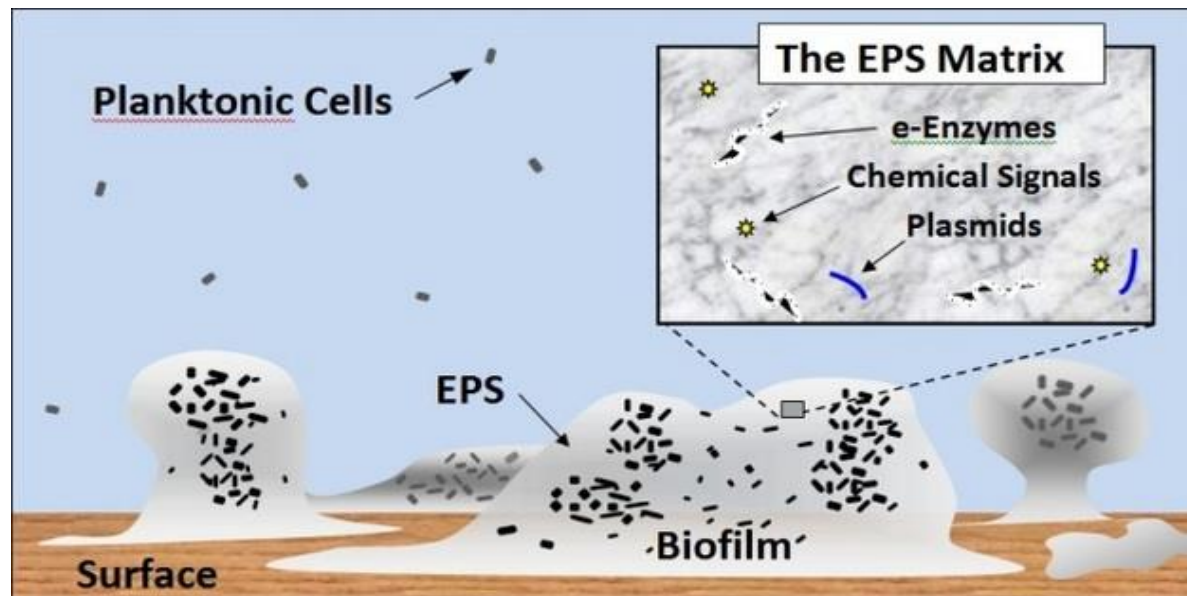
Bet iš pradžių....



- **Biofilmas** – tai gleivingas sluoksnis, greitai formuojantis ant įmerkto substrato. Biofilmų bendrijas sudaro vienaląsčiai organizmai (bakterijos, mikrodumliai, mikrogrybai, pirmuonys) bei makrofaunos „propagulės“

Kodēl biofilmai jdomūs mokslininkams ir valdininkams?

- Tai yra apaugu bendrijos pirmtakas
- Biofilmu sudētis gali apsprēsti sukcesijas ypatumus
- Biofilmuose gali būti aptikti nepageidaujami organizmai ankstyvoje plytymo stadijoje
- Biofilmai gali jtakoti fizines ir chemines substrato savybes



Tyrimų rajonas – Canterbury regionas, Pietinė sala, Naujoji Zelandija



Christo



Tyrimų rajonas – Canterbury regionas, Pietinė sala, Naujoji Zelandija



Tyrimų rajonas – Canterbury regionas, Pietinė sala, Naujoji Zelandija



Tyrimų rajonas – Canterbury regionas, Pietinė sala, Naujoji Zelandija



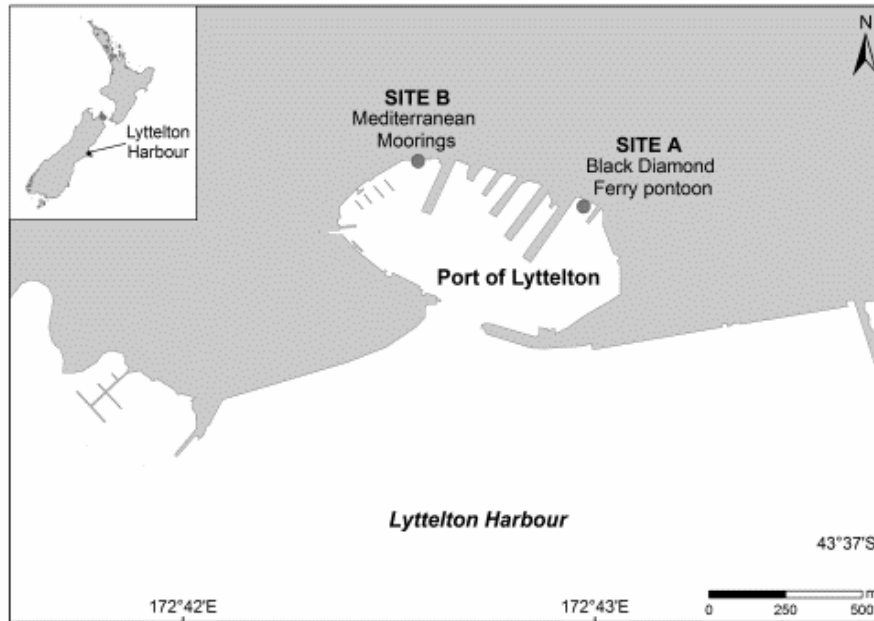
Tyrimų rajonas – Canterbury regionas, Pietinė sala, Naujoji Zelandija



Tyrimų rajonas – Canterbury regionas, Pietinė sala, Naujoji Zelandija



Apaugimų stebėjimo eksperimentas Liteltono uoste

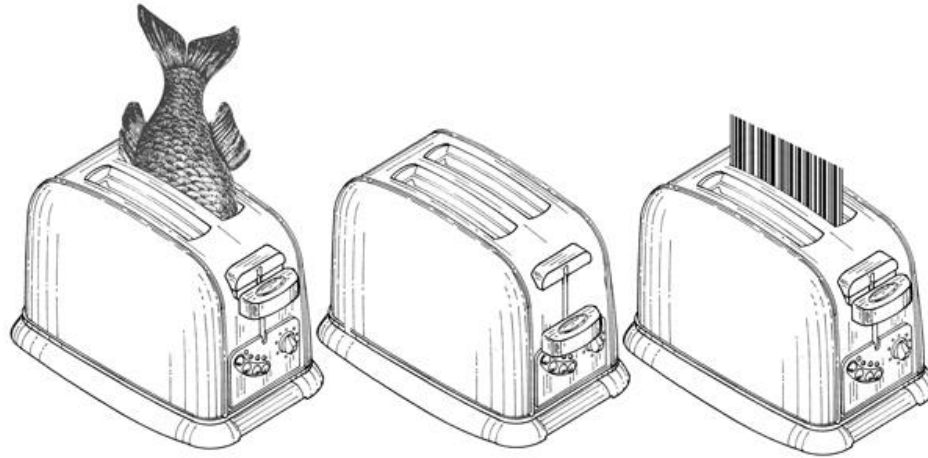


- 184 apaugimo plokštelės
- 2 tyrimo vietos :
Site A, Site B
- 2 stebėjimo periodai:
Sausio 2-17; Vasario 11-26
- 3 išlaikymo periodai:
1 diena, 5 dienos, 15 dienų

- Stratifikuotas dizainas:
116, 40, 28 mėginiai
- 2 analizės būdai:
 - NGS metabarkodingas
(18S rRNA genas)
 - Morfologinis



NGS metabarcoding in a nutshell...



Sampling
in the field
(soil, water, etc.)



DNA
extraction



DNA amplification
with universal
primers



High throughput
parallel
pyrosequencing



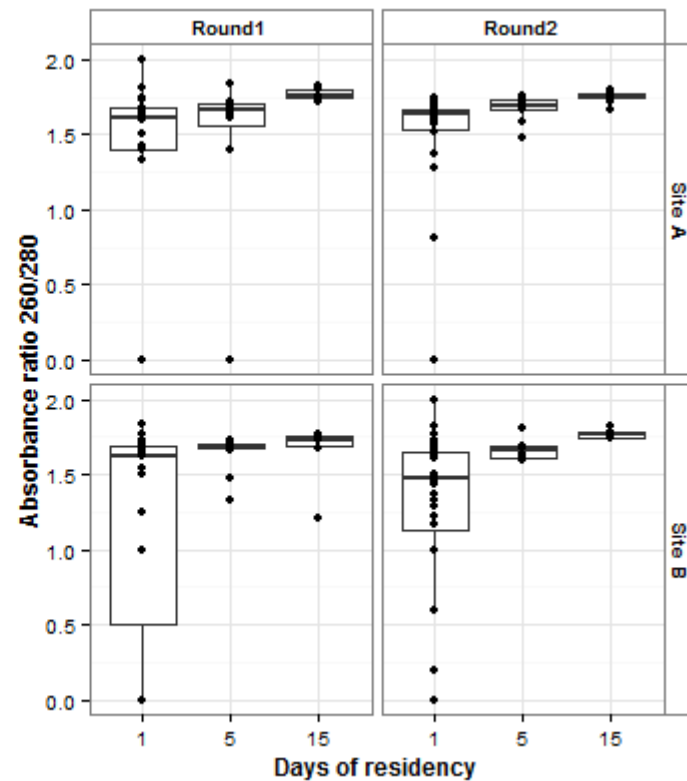
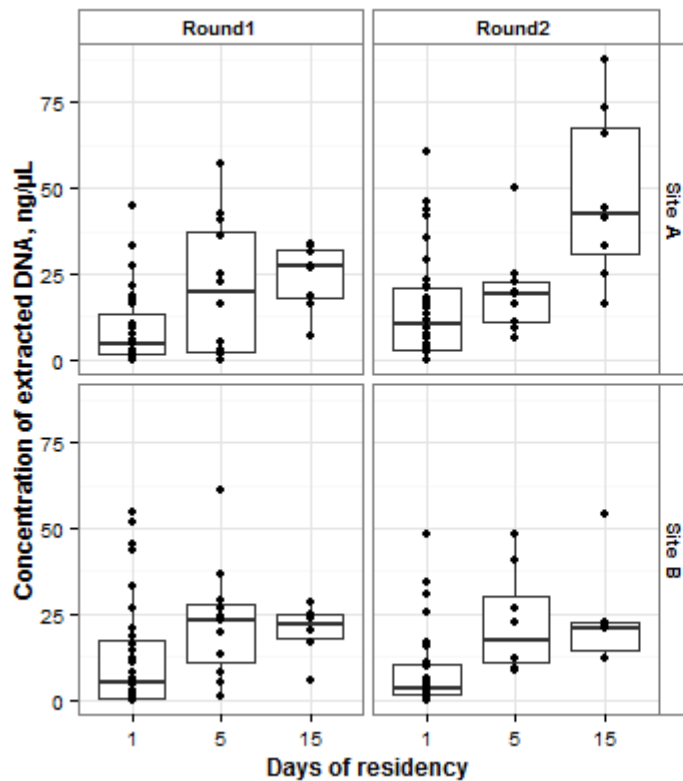
Reference
database



Species identification
via DNA barcoding

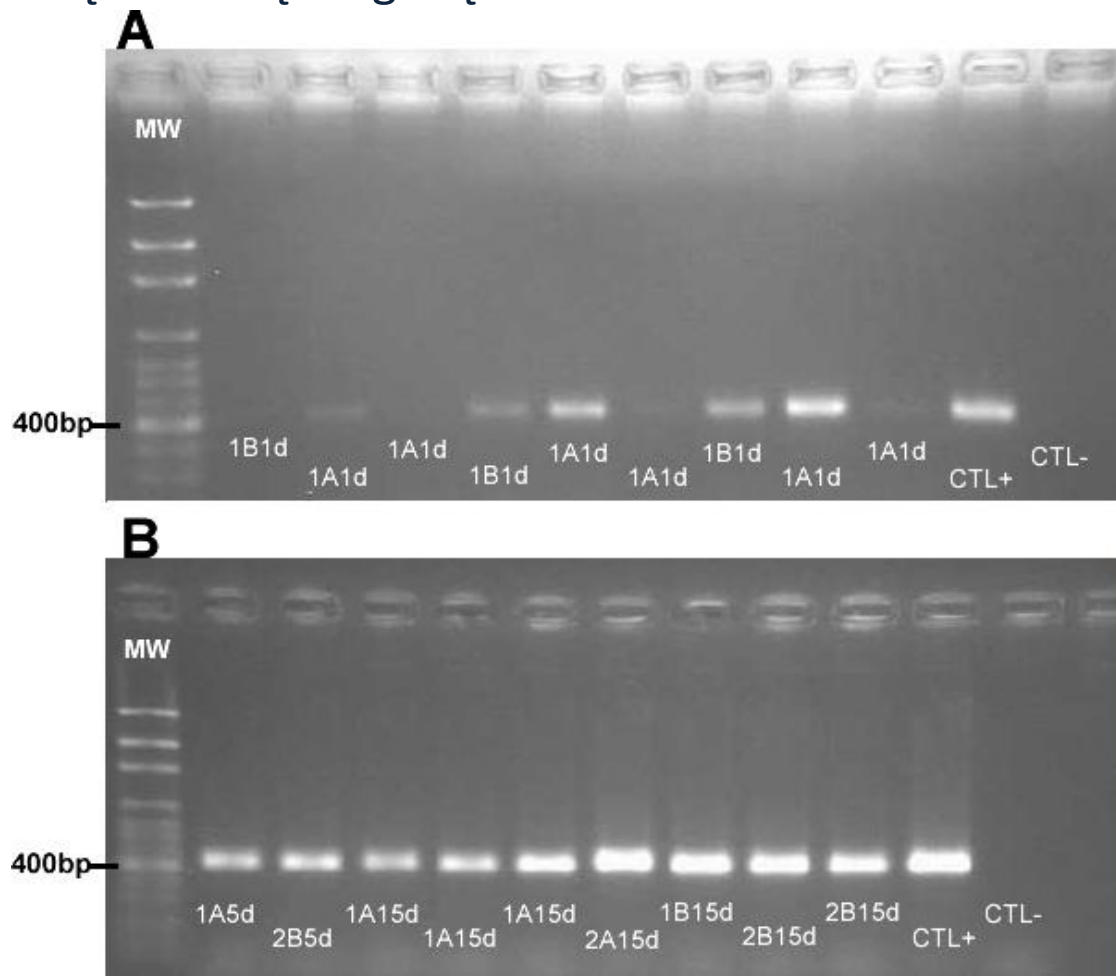
eDNR išskyrimo rezultatai

- Išskirtos DNR kokybė ir kiekis ženkliai variavo tarp valdymų



PCR rezultatai

- 18S rRNA geno V4 regionas sėkmingai amplifikavosi iš 105 eDNA mėginių.
- Vidutinė amplifikacijų sėkmė - 34%, 90% ir 96% atitinkamai iš 1, 5 ir 15 dienų biofilmų mėginių.



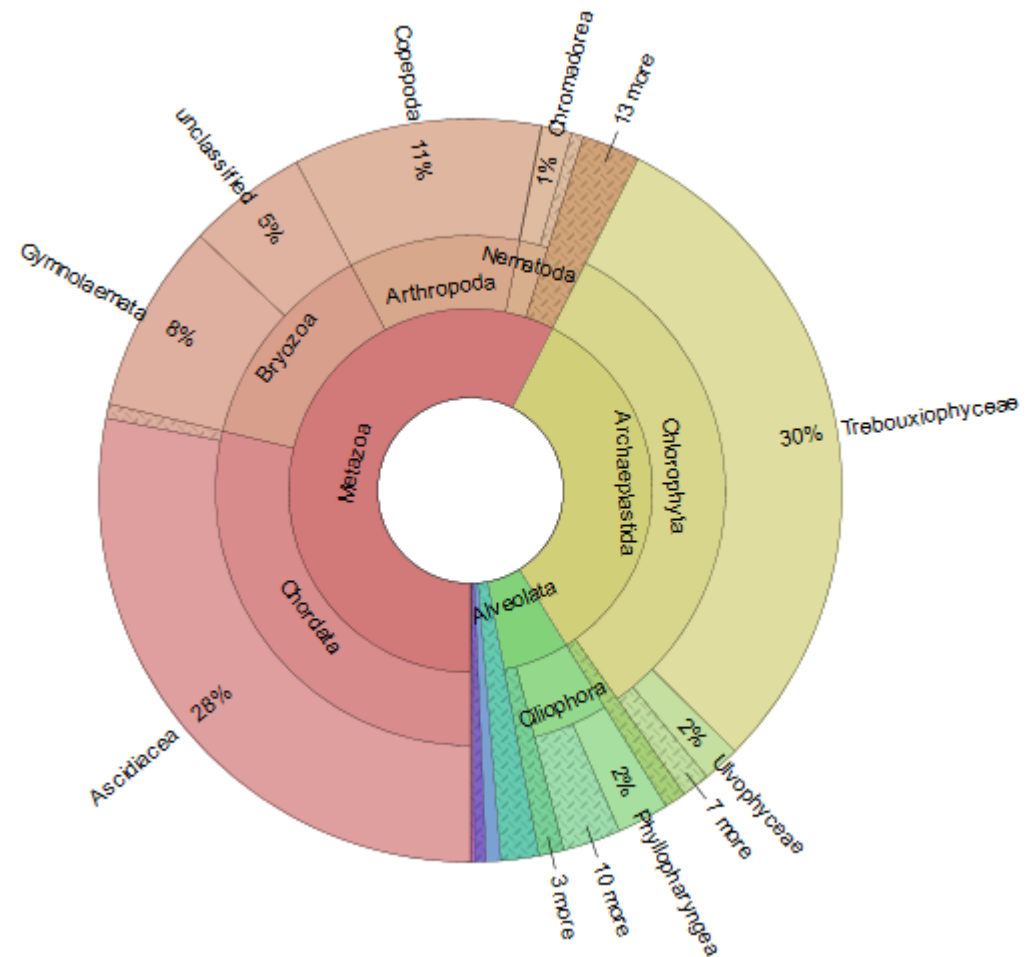
NGS rezultatai

- 5 481 689 DNR sekų iš 105 mėginių
- Po griežto filtravimo: 1 879 884 aukštos kokybės sekų tolimesnei analizei
- 2 mėginiai buvo atmesti dėl mažo kiekio kokybiškų sekų

Factors		Residency: 1 Day		Residency: 5 Days		Residency: 15 Days	
		n	# seqs	n	# seqs	n	# seqs
Round1	Site A	10	136,519	10	157,274	8	236,296
	Site B	9	128,478	11	105,761	6	123,738
Round 2	Site A	12	172,858	9	104,988	8	92,470
	Site B	9	163,828	6	112,722	5	76,625

Biojvairovė aptikta su NGS

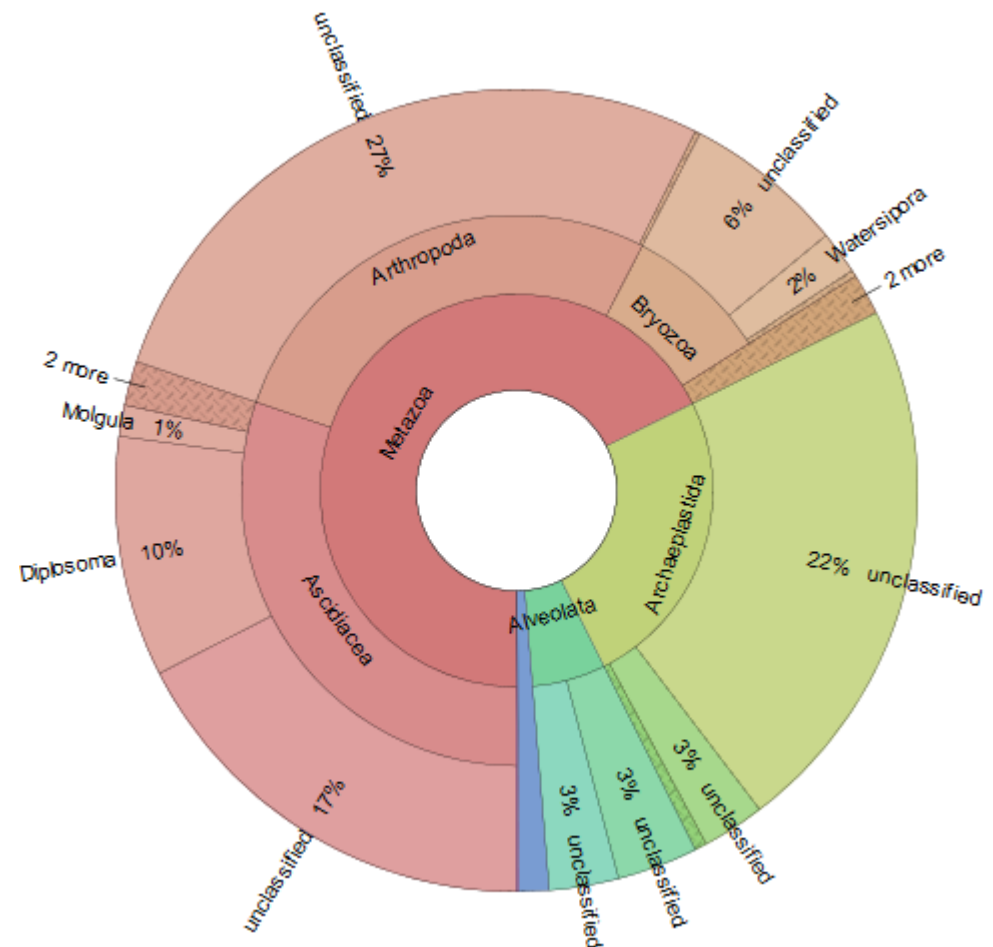
- 7 supergroups
- 33 phyla
- 73 classes
- 132 orders
- 195 families
- 240 genera
- 182 species



- file:///D:/Documents/Cawthron%20projects/Kate's%20plates/all/Krona_taxonomy_split_aquatic.html

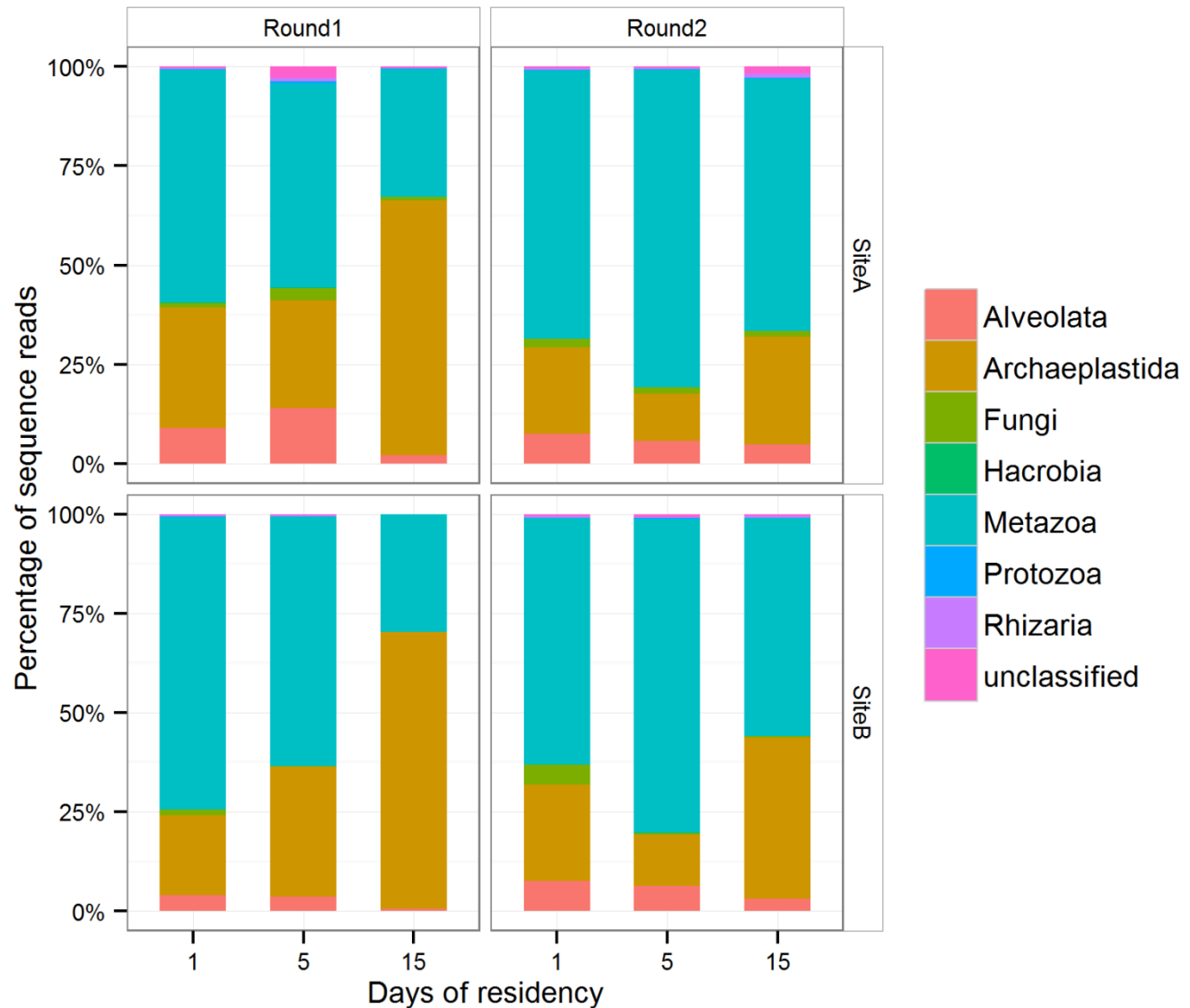
Biojvairovė aptikta morfologiniu būdu

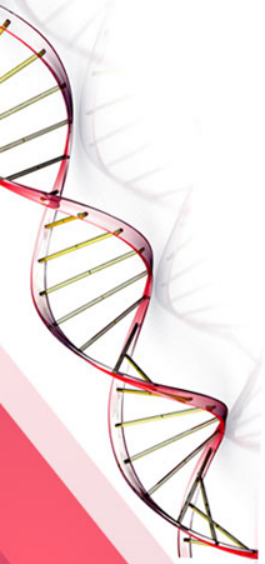
- 4 supergroups
- 11 phyla
- 11 classes
- 7 orders
- 7 families
- 6 genera



- file:///D:/Documents/Cawthron%20projects/Kate's%20plates/all/Krona_morphol_tax_Supp.html

Biofilmų bendrijos raidos ypatumai



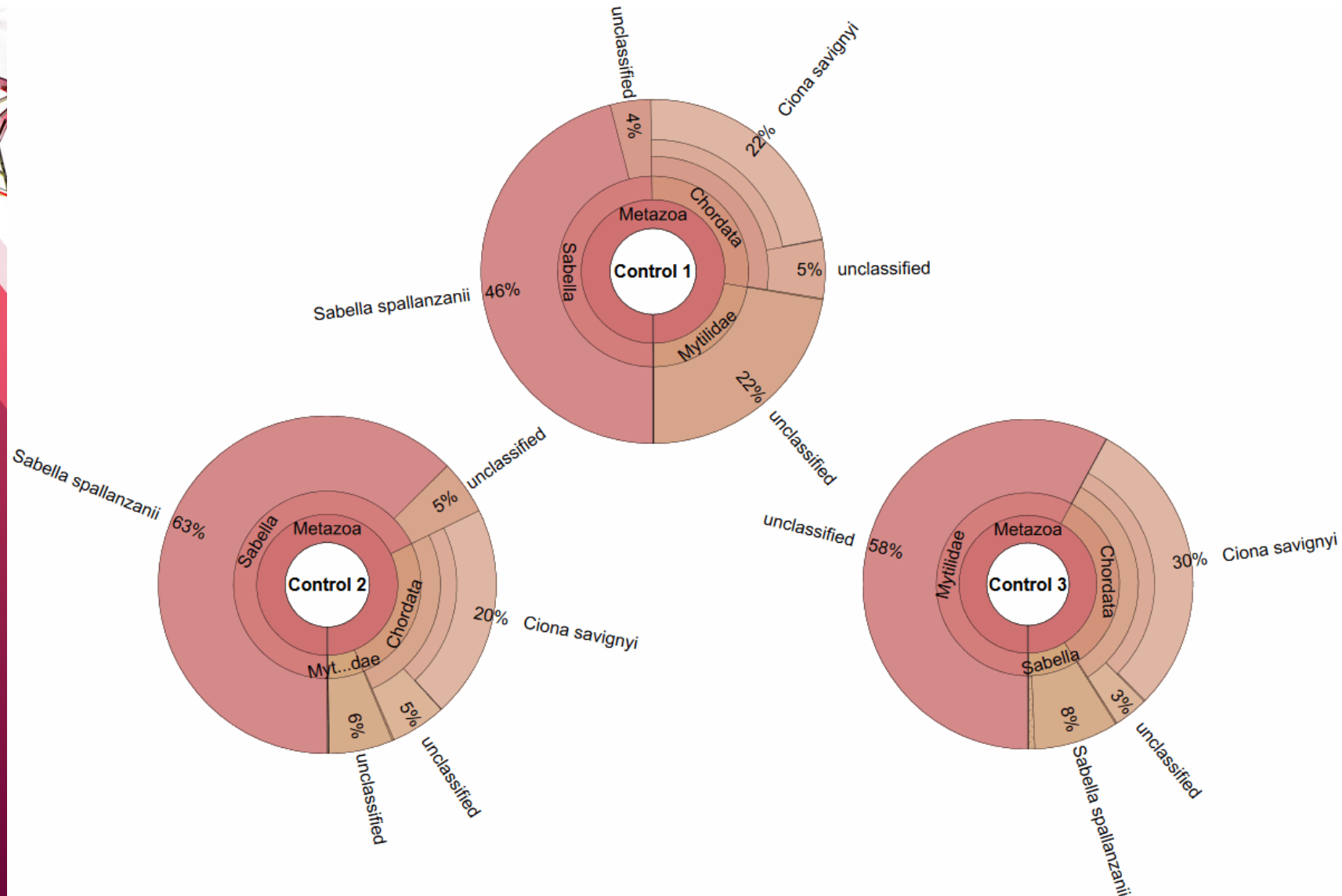


Analizuojamų faktorių poveikis (PERMANOVA rezultatai)

Faktorius	% sekų skaičius		Sekų P/A	
	Pseudo F	P	Pseudo F	P
Vieta (Site)	1,39	0,3	1,14	0,35
Laikas (Round)	2,98	0,02	1,37	0,21
Išlaikymas (Residency)	2,37	0,01	1,79	0,004

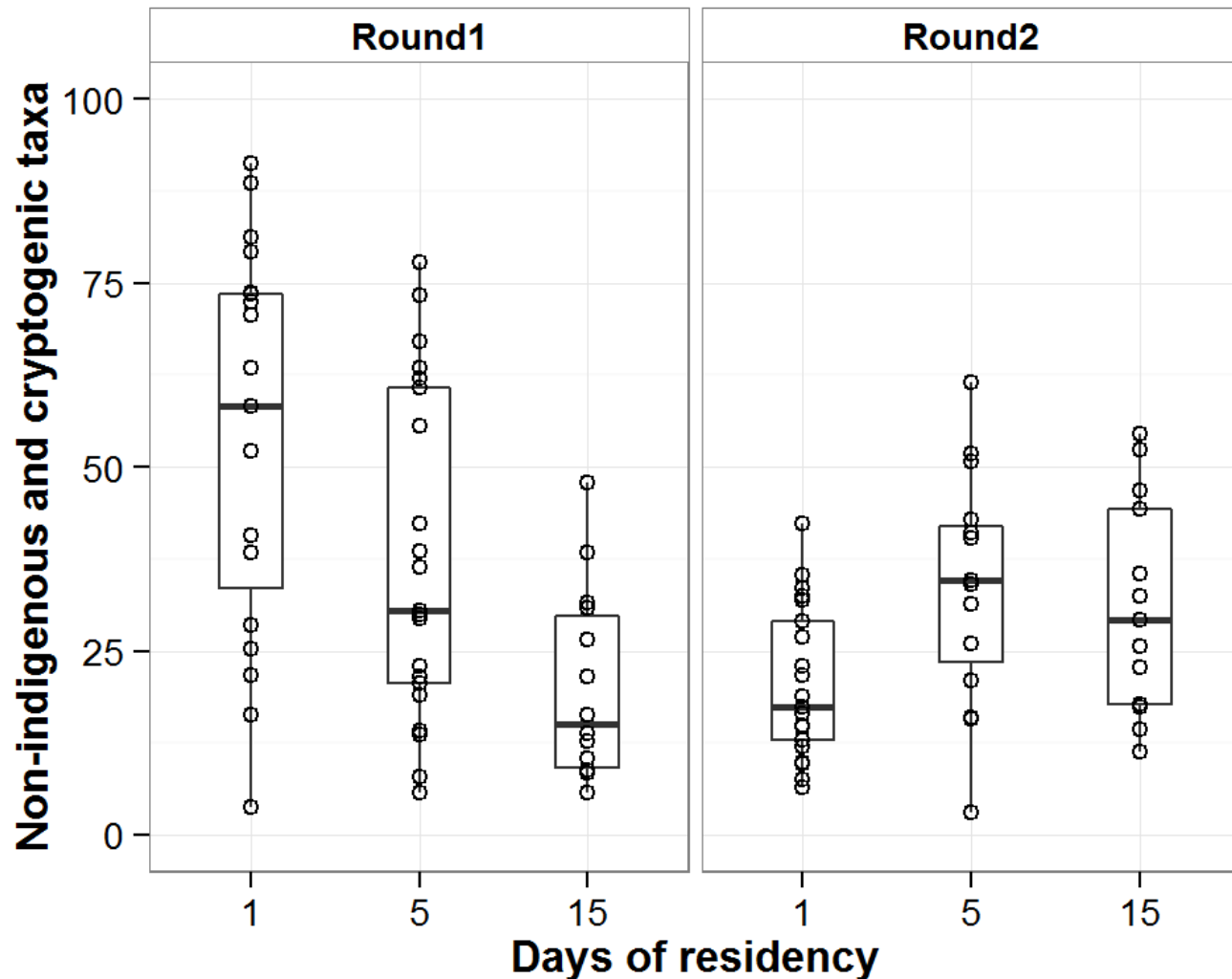
NGS vidinē kontrolē - *Sabella spallanzanii*, *Ciona savignyi* and *Perna perna* mock community

Control 1: equimolar; **Control 2:** 10: 5:1 ; **Control 3:** 1:5:10

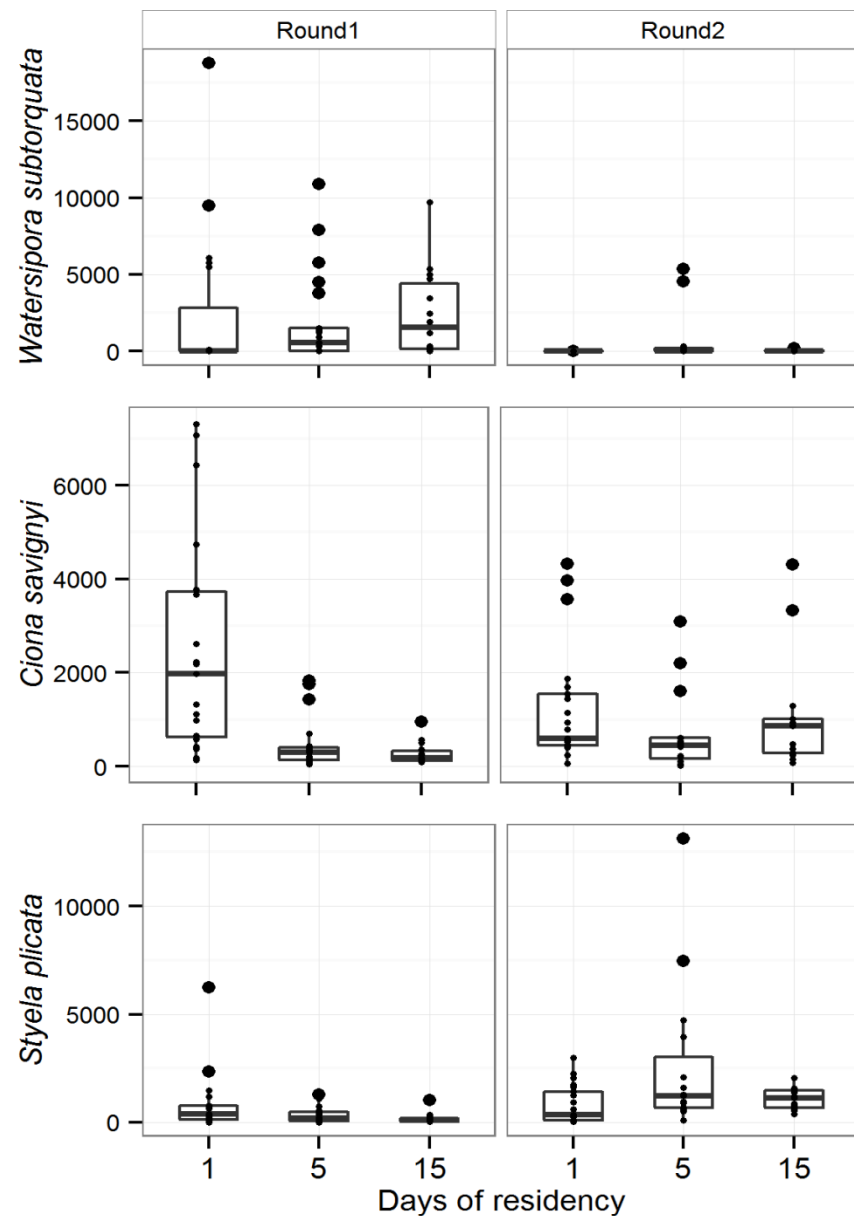


Nevietinių ir kriptogeninių rūšių

- 21 gentys, kurių sudėtyje yra nevietinių rūšių



Aptiktų nevietinių rūšių pavydžiai





Take home messages

- NGS metabarkodingas leido aukštos taksonominės rezoliucijos biofilmų bendrijų vertinimą
- Jau pirmą dieną ant įmerkto substrato susiformuoja taksonomiškai įvairūs biofilmai
- Biofilmo taksonominė sudėtis priklauso nuo sezono ir išlaikymo periodo
- Oportunistinės (tarp jų ir nevietinės, potencialiai invazinės) rūšys linkusios nusėsti pirmos ir ypatingai dominuoja ankstyvoje biofilmų bendrijoje



Bioinvazijų kontekste tai reiškia:

- Nauji povandeniniai substratai gali kaupti „nepageidaujamas“ rūšis ir tapti tolimesnio plitimo „tramplinais“
- Tariamai švarių laivų korpusų biofilmuose gali dominuoti invazinių rūšių propagulės (netgi jei atitinka korpuso apaugimo reikalavimų)
- NGS metabarkodingas yra naudingas apaugų monitoringui (pvz., uosto monitoringui pagal BWMC reikalavimus) arba nevietinių rūšių monitoringui (pvz., pagal JSPD reikalavimus)
- Siekiant efektyvesnio nevietinių rūšių aptikimo, pasyvaus monitoringo priemonės patartina išdėstyti tyrimų vietose vegetacinio sezono pradžioje, trumpam išlaikymui vandenyje (1-5 dienos)
- Tačiau, trumpesniai išlaikymai reikalingas pakankamas pakartojimų skaičius, nes ankstyvų biofilmų eDNA kiekis ir kokybė gali būti gana variabilūs.



Acknowledgements

People

Janet Adamson (Cawthron)

Fiona Gower(Cawthron)

Funding

National Institute of Water and Atmospheric Research under
Coasts and Oceans Research - Programme 4 - Marine
Biosecurity

638 (2012/13 SCI)

